

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

STIC-ILL

246,515

Fr m: Lukton, David
Sent: Wednesday, March 31, 1999 11:37 AM.
To: STIC-ILL

David Lukton
308-3213
AU 1654
SN 09/086327

Stuerzebecher, J.

"Synthetic Inhibitors of Cysteine Proteinases..."

Pharmazie 42(2) 114-116, 1987

RW

Scientific and Technical
Information Center

APR 30 RECD

PAT. & T.M. OFFICE

990401A158

Synthetische Inhibitoren der Serinproteinasen^①

32. Mitteilung²: Hemmung von Trypsin, Plasmin und Thrombin durch Amide des α -substituierten 4-Amidinophenylalanins. Einfluß verschiedener Aminosäuren und Schutzgruppen im α -Rest auf die Inhibitoraktivität

J. STÜRZEBECKER, F. MARKWARDT, P. WALSMANN, B. VOIGT und G. WAGNER

Cyclische Amide des α -arylsulfonylierten 4-Amidinophenylalanins sind spezifische, stark wirksame Hemmstoffe des Thrombins. Die Einführung von Aminosäuren zwischen Arylsulfonylschutzgruppe und Aminostickstoff beeinflusst insbesondere die Antithrombinaktivität. Mit Glycin als Spacer werden die Verbindungen zu „tight binding“-Inhibitoren des Thrombins, während die Einführung anderer ω -Aminosäuren, Gly-Gly, L-Pro, Gly-L-Pro oder L-Pro-Gly Spezifität und Stärke der Thrombinhemmung reduziert. Der Austausch der Arylsulfonylschutzgruppe gegen einen Heteroarylsulfonyl- oder Acylrest vermindert die Antithrombinaktivität, der Ersatz durch eine Benzoyloxycarbonylschutzgruppe beeinflusst die Wirkungsstärke wenig. Es wird abgeleitet, daß der α -Rest eine entscheidende Bedeutung für die Antithrombinaktivität von Derivaten des 4-Amidinophenylalanins hat.

Synthetic Inhibitors of Serine Proteinases

Part 32: Inhibition of Trypsin, Plasmin and Thrombin by Amides of α -Substituted 4-Amidinophenylalanine. Influence of Various Amino Acids and Blocking Groups of the α -Residue on the Inhibitory Activity

Cyclic amides of α -arylsulfonylated 4-amidinophenylalanine are specific, highly potent inhibitors of thrombin. Introduction of amino acids between the arylsulfonyl blocking group and amino nitrogen influence particularly the antithrombin activity. By the use of glycine as spacer the compounds become tight binding thrombin inhibitors, while introduction of other ω -amino acids, Gly-Gly, L-Pro, Gly-L-Pro or L-Pro-Gly, reduces the specificity and potency of thrombin inhibition. Substitution of the arylsulfonyl blocking group for a heteroarylsulfonyl residue or an aryl residue causes a decrease in antithrombin activity, while substitution for a benzoyloxycarbonyl blocking group has only slight influence. It is concluded that the α -moiety is of decisive importance for the antithrombin activity of derivatives of 4-amidinophenylalanine.

1. Einleitung

Benzamidin und seine Derivate sind kompetitive Hemmstoffe des Trypsins und anderer trypsinähnlicher Serinproteinasen. Der Benzamidinrest, der die protonierte Seitenkette basischer Aminosäuren imitiert, wird im primären Bindungsbereich („specificity pocket“) des aktiven Zentrums des Enzyms gebunden. Die Bindung der Inhibitorseitenkette(n) erfolgt an sekundäre Bindungsbereiche. Darüber hinaus sind Wechselwirkungen mit dem katalytischen Zentrum, das am Eingang der Spezifitätstasche lokalisiert ist, möglich [11].

Struktur-Wirkungs-Vergleiche für die Hemmung von Trypsin, Plasmin und Thrombin durch Benzamidinderivate mit unverzweigter Seitenkette hatten zunächst gezeigt, daß zwar Unterschiede in der primären Affinität der Inhibitoren zu den genannten Enzymen bestehen, die Variation der Seitenkette aber die Hemmwirkung gegenüber diesen Enzymen relativ gleichartig beeinflusst [7, 14]. Nach diesem Befund erschien die Suche nach Derivaten mit spezifisch gegen ein Enzym gerichteter Hemmwirkung zunächst nicht erfolgversprechend. Unter 3-substituierten Benzamidinderivaten wurden dann erstmalig Verbindungen gefunden, die den Gerinnungsfaktor Xa relativ selektiv inaktivieren [15]. Schließlich gelang es, durch Verzweigung der Seitenkette über eine Sulfonamidbindung (Derivate von ω -Amidinophenyl- α -aminoalkylcarbonsäuren) einen Inhibitorotyp zu entwickeln, dessen

Struktur Voraussetzungen zur spezifischen Bindung an einzelne Serinproteinasen besitzt. So erwiesen sich primäre Amide von α -geschützter ω -Amidinophenyl- α -aminobuttersäure als Inhibitoren von Trypsin und Plasmin [12], während cyclische Amide des α -arylsulfonylierten 4-Amidinophenylalanins als selektive, sehr wirksame Hemmstoffe des Thrombins charakterisiert wurden [9, 10].

Da spezifische Hemmstoffe des Thrombins potentielle Antithrombotica darstellen [8], wurde durch Variation des α -Substituenten bei 4-Amidinophenylalaninamiden versucht, Wirkungsstärke und Selektivität der Hemmwirkung zu erhöhen. Mit α -arylsulfonylaminoacylierten Verbindungen – Glycin wurde als Spacer benutzt – wurden selektiv wirkende Thrombinhemmstoffe hoher Affinität („tight binding inhibitors“) gefunden [13]. Diese Verbindungen können als „Pseudopeptide“ angesehen werden, bei denen 4-Amidinophenylalanin Arginin vertritt. Es liegt nahe, die Ergebnisse über die Affinität von Peptidsubstraten und -inhibitoren zu Thrombin für die Synthese neuer Derivate des 4-Amidinophenylalanins zu nutzen [1–3]. Danach sollten Prolin in P_2 -Position und aromatische Aminosäuren bzw. Schutzgruppen in P_3 -Position die Affinität der Verbindungen zu Thrombin erhöhen. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die Inhibitoraktivität verschiedener Amide des 4-Amidinophenylalanins, bei denen der α -Arylsulfonylrest durch andere Schutzgruppen ausgetauscht bzw. weitere Aminosäuren zwischen Schutzgruppe und Aminostickstoff eingeführt wurden.

2. Untersuchungen und Ergebnisse



Die Inhibitoraktivität der untersuchten Verbindungen wurde aus ihrem Einfluß auf die durch Trypsin, Plasmin und Thrombin katalysierte Hydrolyse von α -Benzoyl-D,L-arginin-4'-nitroanilid bei 25°C und pH = 8,0 ermittelt. Es wurde die Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes K_i nach Dixon [4] grafisch bestimmt. Die Methode und die Herkunft der benutzten Substanzen wurde in einer früheren Mitteilung ausführlich beschrieben [25]. Für die Hemmung von Thrombin kann das Substrat α -Benzoyl-D,L-arginin-4'-nitroanilid allerdings nur benutzt werden, wenn die K_i -Werte 2 μ mol/l nicht unterschreiten. Anderenfalls würden Enzym- und Inhibitorkonzentration in einer Größenordnung liegen, so daß die Bedingungen für die K_i -Wertbestimmung nach Dixon [4] nicht mehr erfüllt wären. Für Inhibitoren mit K_i -Werten unter 2 μ mol/l wurde deshalb das empfindlichere Substrat H-D-Phe-Pip-Arg-pNA eingesetzt [13]. Da dieses Prinzip bei früheren Publikationen [9, 10] noch nicht berücksichtigt wurde, werden hier für einige schon publizierte Verbindungen veränderte K_i -Werte mitgeteilt. Die Inhibitoren wurden von Wagner und Mitarb. [5, 16–24] hergestellt und in der dort beschriebenen Form als Salze eingesetzt. 4-Amidinophenylalanin lag immer als Racemat vor, die Konfiguration von Prolin wird im Text angegeben.

Alle untersuchten Verbindungen hemmen die durch Trypsin, Plasmin und Thrombin katalysierte Spaltung von α -Benzoyl-D,L-arginin-4'-nitroanilid bzw. H-D-Phe-Pip-Arg-pNA kompetitiv. Im Untersuchungszeitraum wurde keine durch die eingesetzten Enzyme katalysierte Hydrolyse der Amidbindungen beobachtet.

2.1. Hemmung von Thrombin durch α -substituierte Derivate des 4-Amidinophenylalanins

α -arylsulfonylierte und α -arylsulfonylaminoacylierte Amide des 4-Amidinophenylalanins wurden schon vorgestellt [9, 10, 13]. Die Antithrombinaktivität einiger Amide dieses Typs wird mit der Hemmwirkung der neu vorgestellten Derivate mit verändertem

Tabelle 1 Antithrombinaktivität von Amiden des Na-substituierten 4-Amidinophenylalanins

$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{HN} \\ \\ \text{R}^2 \end{array} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CO-R}^2 \\ \\ \text{NH-R}^1 \end{array}$ $\text{R}^2 =$	K_i [$\mu\text{mol/l}$]			
	Nr.	NH- α -C ₆ H ₅	Nr. 	Nr. 
Tos	1	23	21	5,9
Tos-Gly	2	14	22	0,052
Tos- β Ala			23	2,1
Tos- ϵ Acp				44
Tos-L-Pro	3	53	24	42
Tos-Gly-Gly	4	38	25	14
Tos-Gly-D,L-Pro	5	21	26	0,40
Tos-Gly-L-Pro	6	110	27	40
Tos-L-Pro-Gly	7	140	28	83
α Nas	8	5,7	29	4,9
α Nas-Gly	9	15	30	0,058
α Nas-Gly-Gly	10	87	31	14
β Nas	11	3,6	32	0,54
β Nas-Gly	12	2,3	33	0,013
β Nas-L-Pro	13	90	34	63
β Nas-Gly-Gly	14	43	35	7,1
Tol	15	98		57
Bz-Gly	16	130	36	4,9
Z	17	63	37	4,8
Z-Gly	18	140	38	2,5
Z-L-Pro	19	390	39	40
Chs	20	230	40	54
				62
				41
				42
				43
				44
				45
				46
				47
				48
				49
				50
				51
				52
				53
				54
				55
				56
				57
				58
				59
				60
				61
				62
				63
				64
				65
				66
				67
				68
				69
				70
				71
				72
				73
				74
				75
				76
				77
				78
				79
				80
				81
				82
				83

* Tos = Tolytsulfonyl, α Nas = α Naphthylsulfonyl, β Nas = β Naphthylsulfonyl, Bz = Benzoyl, Z = Benzyloxycarbonyl, Chs = 8-Chinolinsulfonyl, ϵ Acp = ϵ -Aminocaproyl

Na-Substituenten in Tab. 1 verglichen. Es zeigt sich, daß die Hemmwirkung der Na-arylsulfonylierten Pyrrolidide und Piperidide 21, 29, 32, 41, 50 und 53 (K_i -Werte im mikromolaren Bereich) gegenüber Thrombin durch Einführung eines Glycin-Restes sehr stark erhöht wird. Die entsprechenden Verbindungen 22, 30, 33, 42, 51 und 54 sind sog. „tight binding“-Inhibitoren. Das β Nas-Gly-Derivat 54 ist mit einem K_i von 6 nmol/l der stärkste bekannte kompetitive Thrombinhemmstoff. Obwohl die Antithrombinaktivität der Na-arylsulfonylierten n-Butylamide 1, 8 und 11 und Morpholide 63, 71 und 74 in der Größenordnung der Pyrrolidide und Piperidide liegt, ist der Übergang zu den entsprechenden Na-Arylsulfonylglycyl-Derivaten in bezug auf die Hemmwirkung gegenüber Thrombin wenig effektiv (Verbindungen 2, 9 und 12 bzw. 64, 72 und 75). Im Gegensatz zu Glycin führt bei den Na-arylsulfonylierten Pyrrolididen und Piperididen die Vergrößerung des Abstandes zwischen Aminostickstoff und der Schutzgruppe durch Einfügung längerer ω -Aminoalkylcarbon-säuren (β Ala, ϵ Acp) oder einer Gly-Gly-Brücke nur zu geringen V-ränderungen der Hemmwirkung. Dagegen ergibt die Einführung von L-Prolin nur Derivate mit verringerter Antithrombinaktivität, das gilt auch für Verbindungen mit einer Gly-L-Pro- oder L-Pro-Gly-Brücke. Unter den Derivaten des 4-Amidinophenylalanins, die N-terminal 2 Aminosäuren enthalten, sind nur das Pyrrolidid 26 und das Piperidid 47 mit einem Tos-Gly-D,L-Pro-Rest stärker wirksam als die Stammverbindungen. Da die Tos-Gly-L-Pro-Derivate 27 und 48 nur schwache Inhibitoren sind, ist offensichtlich die Verbindung mit Prolin in D-Konfiguration der wirksame Inhibitor.

Der Austausch des Arylsulfonylrestes durch eine Schutzgruppe vom Acyltyp bedingt eine Reduzierung der Antithrombinaktivität. So besitzen die Na-Methylbenzoylderivate 15, 57 und 78 eine sehr viel geringere Hemmwirkung gegenüber Thrombin als die isosteren Tosylderivate 1, 41 und 63. Allerdings erreichen das Na-Benzoylglycyl-substituierte Pyrrolidid 36 und Piperidid 58 ähnliche Antithrombinaktivitäten wie die Na-arylsulfonylierten Derivate, nicht aber die der entsprechenden Tos-Gly-Derivate. Geringe Unterschiede bestehen in der Antithrombinaktivität der Na-tosylierten Amide des 4-Amidinophenylalanins und den Verbindungen 17, 37, 59 mit einer Benzyloxycarbonyl-Aminoschutzgruppe. Das trifft jedoch nicht auf die entsprechenden Derivate mit Glycin als Spacer zu. Die K_i -Werte der Z-Gly-Derivate 18, 38, 60 und 81 liegen etwa eine Größenordnung höher als die der Tos-Gly-Derivate 2, 22, 42 und 64 bzw. die der Na-Naphthylsulfonylglycyl-Verbindungen. Schließlich wurde geprüft, ob der Austausch des Arylsulfonylrestes durch eine Heteroarylsulfonyl-Schutzgruppe die Inhibitoraktivität der Verbindungen verändert. Es zeigte sich, daß die Na-(8-Chinolinsulfonyl)-4-amidinophenylalaninamide 20, 40, 62 und 83 wesentlich geringere Antithrombin-

aktivität besitzen als die isosteren α -naphthylsulfonylierten Derivate 8, 29, 50 und 71. Die K_i -Werte differieren um mehr als eine Zehnerpotenz.

2.2. Hemmung von Trypsin und Plasmin durch Na-substituierte Derivate des 4-Amidinophenylalanins

Amide des Na-arylsulfonylierten 4-Amidinophenylalanins sind schwache Trypsinhemmstoffe mit K_i -Werten zwischen 50 und 100 $\mu\text{mol/l}$ (Tab. 2). Die Einfügung von Aminosäuren zwischen der Arylsulfonylschutzgruppe und dem Aminostickstoff bzw. ihr Austausch durch andere Schutzgruppen beeinflusst die Antitrypsinaktivität nur unwesentlich. Nur die Einfügung von Gly, Gly-Gly bzw. Gly-D,L-Pro als Spacer verstärkt die Hemmwirkung der Na-arylsulfonylierten Derivate gegenüber Trypsin, so daß K_i -Werte im mikromolaren Bereich erreicht werden.

Gegenüber Plasmin haben alle untersuchten Verbindungen nur eine geringe Hemmwirkung, die K_i -Werte liegen bei 500 $\mu\text{mol/l}$ (Tab. 3). Lediglich die Na-Arylsulfonyl-glycyl-Derivate erreichen für die Plasminhemmung K_i -Werte um 50 $\mu\text{mol/l}$.

Tabelle 2 Antitrypsinaktivität von Amiden des Na-substituierten 4-Amidinophenylalanins

K_i [$\mu\text{mol/l}$]			
Nr.	Nr.	Nr.	Nr.
1	150	21	58
2	28	22	2,5
		23	16
			44
3	47	24	35
4	35	25	18
5	9,5	26	4,3
6	7,9	27	17
7	60	28	19
8	110	29	67
9	20	30	2,9
10	30	31	17
11	84	32	35
12	15	33	1,1
13	34	34	37
14	26	35	7,8
15	38		57
16	70	36	18
17	36	37	17
18	78	38	14
19	46	39	20
20	150	40	46
			62
			41
			42
			43
			44
			45
			46
			47
			48
			49
			50
			51
			52
			53
			54
			55
			56
			57
			58
			59
			60
			61
			62
			63
			64
			65
			66
			67
			68
			69
			70
			71
			72
			73
			74
			75
			76
			77
			78
			79
			80
			81
			82
			83

Tabelle 3 Antiplasmainaktivität von Amidinen des Na-substituierten 4-Amidinophenylalanins

K _i [μmol/l]							
Nr.		Nr.		Nr.		Nr.	
1	>1000	21	>1000	41	>1000	63	>1000
2	400	22	33	42	57	64	230
		23	640	43	680	65	600
				44	250		
3	830	24	780	45	720	66	880
4	450	25	450	46	150	67	480
5	300	26	86	47	120	68	120
6	430	27	490	48	210	69	290
7	> 200	28	> 200	49	> 200	70	> 200
8	>1000	29	820	50	>1000	71	>1000
9	140	30	39	51	34	72	44
10	600	31	380	52	380	73	290
11	>1000	32	>1000	53	800	74	>1000
12	210	33	39	54	30	75	47
13	>1000	34	590	55	790	76	>1000
14	200	35	220	56	230	77	140
15	310			57	410	78	380
16	790	36	400	58	620	79	530
17	480	37	760	59	590	80	660
18	>1000	38	350	60	340	81	510
19	370	39	820	61	440	82	>1000
20	>1000	40	>1000	62	>1000	83	>1000

3. Diskussion

Wie schon früher mitgeteilt, sind cyclische Amide des Na-arylsulfonylierten und Na-arylsulfonylaminoacylierten 4-Amidinophenylalanins spezifische, stark wirksame Thrombininhibitoren [9, 10, 13]. Da eine selektive Thrombinhemmung eine wichtige Voraussetzung für den Einsatz der Inhibitoren als Antikoagulantien ist, erscheint es notwendig, auch Struktur-Wirkungs-Beziehungen zur Spezifität der Hemmwirkung abzuleiten. Bei den hier vorgestellten Verbindungen soll dazu der Vergleich von Trypsin- und Thrombinhemmung dienen.

Für Benzamidine mit unverzweigter Seitenkette wurde ein Verhältnis der K_i-Werte für die Hemmung von Trypsin:Thrombin von etwa 1:10 gefunden [7]. Bei den Na-arylsulfonylierten Pyrroliden und Piperidinen des 4-Amidinophenylalanins liegt dieses Verhältnis bei 20:1, bei den Na-arylsulfonylaminoacylierten Derivaten erreicht es 100:1! Diese selektive Thrombinhemmung wird durch optimale Wechselwirkungen zwischen den Inhibitoren und den Bindungsbereichen des aktiven Zentrums von Thrombin erreicht, die mit Trypsin nicht ausgebildet werden. Es wird angenommen, daß die Fixierung des Arylsulfonylrestes über hydrophobe Wechselwirkungen an sekundäre Bindungsbereiche die tetrahedrale Annäherung der Hydroxylgruppe des Serinrestes aus dem aktiven Zentrum am Carbonamid-C begünstigt [11].

Die Bedeutung des Na-Substituenten für die Spezifität der Hemmwirkung läßt sich aus der Inhibitoraktivität der vorgestellten Verbindungen ableiten. Insgesamt fällt auf, daß die Veränderung des Na-Restes die Antitrypsinaktivität nur unwesentlich beeinflußt (maximal 1 Zehnerpotenz), der Na-Rest demnach kaum zu Wechselwirkungen mit Bindungsbereichen des Trypsins fähig ist. Dagegen bewegen sich die K_i-Werte für die Thrombinhemmung über 5 Größenordnungen! Daraus ergibt sich eine spezifische Hemmwirkung für solche Verbindungen dieses Typs, bei denen der Na-Rest gut an die Bindungsbereiche des Thrombins angepaßt ist.

Hydrophobe Wechselwirkungen der Arylsulfonylschutzgruppe erfolgen mit Gly als Spacer optimal. Die Vergrößerung des Abstandes (βAla, Gly-Gly) verschlechtert die Bindungsmöglichkeiten, die Antithrombinaktivität wird auf die der Stammverbindungen reduziert. Längere Spacer (εAcp) erniedrigen die Hemmwirkung noch weiter. Bei Fixierung der Konformation durch Einbau von Pro (L-Pro, Gly-L-Pro, L-Pro-Gly) kommt keine Bindung zustande, die Derivate sind weitgehend wirkungslos. Erst bei Änderung der Konfiguration des Prolins werden Wechselwirkungen zwischen Na-Rest und dem Enzym wieder möglich, Tos-Gly-D,L-Pro-Derivate sind stark wirksame Verbindungen.

Die Ergebnisse der Testung von Verbindungen mit variierter

Aminoschutzgruppe zeigen, daß offensichtlich auch intramolekulare Wechselwirkungen die Affinität der Inhibitoren zu Thrombin beeinflussen. Es fällt auf, daß der Austausch des Tosylrestes gegen einen isosteren Methylbenzoylrest die Antithrombinaktivität stark reduziert, durch einen Benzyloxycarbonylrest aber nicht verändert wird. Aus der Peptidchemie ist bekannt, daß bei Na-Acylaminosäuren ein nucleophiler Angriff des Carbonyl-O-Atoms am C-Atom der Carboxylfunktion möglich ist (Azlacton-Mechanismus) [6]. Intramolekulare Wechselwirkungen dieser Art, die bei Arylsulfonylschutzgruppen und solchen vom Aralkoxycarbonyltyp nicht möglich sind, verhindern offensichtlich den nucleophilen Angriff des Serin-OH des aktiven Zentrums von Thrombin am Carbonamid-C. Interessanterweise besitzen die Bz-Gly-Derivate wieder verstärkte Antithrombinaktivität. Hier könnten die postulierten hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Arylrest und sekundären Bindungsbereichen des Enzyms dafür verantwortlich sein, daß die intramolekulare Abschirmung des Carbonamid-C nicht zustande kommt.

Eine Abschirmung der Carbonamidgruppe durch intramolekulare Wasserstoffbrücken, die die tetrahedrale Annäherung des Serin-OH verhindert, könnte auch die Ursache für die geringe Wirksamkeit der Morpholide des 4-Amidinophenylalanins mit größeren Na-Resten im Vergleich zu den isosteren Piperidinen sein. Auch für die Wirkungslosigkeit der 8-Chinolinsulfonylderivate als isostere Verbindungen der α-naphthylsulfonylierten Derivate kann keine andere Erklärung gefunden werden.

¹ Die Arbeit wurde mit Unterstützung des VEB Pharmazeutisches Kombinat GERMED – Stammbetrieb VEB Arzneimittelwerk Dresden – durchgeführt

² 31. Mitt.: Pharmazie 39, 411 (1984)

Literatur

- 1 Bajusz, S., E. Barabás, P. Tolnay, E. Széll und D. Bagdy, Int. J. Peptide Protein Res. 12, 217 (1978)
- 2 Blombäck, B., M. Blombäck, P. Olsson, L. Svendsen und G. Åberg, Scand. J. clin. Lab. Invest. 24, Suppl. 107, 59 (1969)
- 3 Claeson, G., L. Aurell, G. Karlsson und P. Friberger, in: J. Witt (Hrsg.), New Methods for Analysis of Coagulation Using Chromogenic Substrates, S. 37, Walter de Gruyter, Berlin – New York 1977
- 4 Dixon, M., Biochem. J. 55, 170 (1953)
- 5 Horn, H., und G. Wagner, Pharmazie, 40, 615 (1985)
- 6 Jakubke, H.-D., und H. Jeschkeit, Aminosäuren, Peptide, Proteine, Akademie-Verlag, Berlin 1982
- 7 Labes, D., und V. Hagen, Pharmazie 34, 649 (1979)
- 8 Markwardt, F., Trends Pharmacol. Sci. 1, 153 (1980)
- 9 Markwardt, F., G. Wagner, J. Stürzebecher und P. Walsmann, Thromb. Res. 17, 425 (1980)
- 10 Stürzebecher, J., H. Horn, F. Markwardt, G. Wagner und P. Walsmann, Pharmazie 36, 639 (1981)
- 11 Stürzebecher, J., und F. Markwardt, Beiträge zur Wirkstoffforschung 16, 92 (1982)
- 12 Stürzebecher, J., F. Markwardt, H. Vieweg, G. Wagner und P. Walsmann, Pharmazie 37, 283 (1982)
- 13 Stürzebecher, J., F. Markwardt, B. Voigt, G. Wagner und P. Walsmann, Thromb. Res. 29, 635 (1983)
- 14 Stürzebecher, J., F. Markwardt, G. Wagner und P. Walsmann, Acta biol. med. german. 35, 1665 (1976)
- 15 Stürzebecher, J., F. Markwardt und P. Walsmann, Thromb. Res. 9, 637 (1976)
- 16 Vieweg, H., und G. Wagner, Pharmazie 38, 170 (1983)
- 17 Voigt, B., und G. Wagner, ibid. 39, 379 (1984)
- 18 Voigt, B., und G. Wagner, ibid. 40, 305 (1985)
- 19 Voigt, B., und G. Wagner, ibid. 40, 527 (1985)
- 20 Voigt, B., und G. Wagner, ibid., 41, 233 (1986)
- 21 Voigt, B., und G. Wagner, ibid., 41, 378 (1986)
- 22 Wagner, G., H. Horn, P. Richter, H. Vieweg, I. Lischke und H.-G. Kazmierski, ibid. 36, 597 (1981)
- 23 Wagner, G., B. Voigt und Ch. Pfeiffer, ibid. 39, 315 (1984)
- 24 Wagner, G., B. Voigt und H. Vieweg, ibid. 39, 226 (1984)
- 25 Walsmann, P., H. Landmann, F. Markwardt, J. Stürzebecher, H. Vieweg und G. Wagner, ibid. 29, 413 (1974)

Eingegangen am 6. November 1985

Prof. Dr. G. Wagner
Brüderstr. 34.
Leipzig
DDR – 7010